

DETERMINAÇÃO DE 21 AMINOÁCIDOS DE PROTEÍNAS DE ALIMENTOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

SIDNEY PACHECO, RONOEL LUIZ DE OLIVEIRA GODOY, JOÃO OIANO NETO, JEANE SANTOS DA ROSA, MANELA CRISTINA PESSANHA DE ARAUJO SANTIAGO

EMBRAPA AGROINDÚSTRIA DE ALIMENTOS

A quantificação do teor protéico é um parâmetro essencial para a determinação do valor nutricional dos alimentos. A metodologia mais utilizada é a determinação indireta através do teor de nitrogênio orgânico total, metodologia utilizada há mais de um século e que leva o nome de seu criador, o químico Johan Gustav Kjeldahl. No entanto o método Kjeldahl não é capaz de diferenciar o nitrogênio orgânico do nitrogênio protéico, fato que acabou por permitir fraude. A adição de melamina em alimentos, com a finalidade de promover o aumento no teor de nitrogênio total, é um exemplo que, devido à sua toxicidade, causou sérios problemas de saúde pública, em especial na China onde a adulteração de leite e derivados causou milhares de casos de contaminação. Métodos alternativos capazes de detectar fraude tem sido de grande demanda, e uma alternativa é a determinação dos aminoácidos contidos nas proteínas. A análise dos aminoácidos é uma metodologia complexa e demorada, no entanto, fornece informações adicionais no que diz respeito à qualidade da proteína presente no alimento, que para ser biologicamente de boa qualidade necessita de um bom balanço dos aminoácidos essenciais. O objetivo deste trabalho foi a implantação na Embrapa Agroindústria de Alimentos de uma metodologia analítica via CLAE para a determinação dos 20 principais aminoácidos contidos nas proteínas dos alimentos, além da hidroxiprolina, um aminoácido presente apenas no colágeno e que permite a quantificação indireta do teor de colágeno de carnes. A hidrólise das proteínas foi feita segundo AOAC 982.30. Três hidrólises distintas foram necessárias: hidrólise ácida (HCl 6M) para a determinação de 18 aminoácidos resistentes, hidrólise básica (NaOH 4,2M) para a quantificação do triptofano, e a prévia oxidação (ácido per fórmico) e posterior hidrólise ácida para a quantificação dos aminoácidos sulfurados. As hidrólises foram conduzidas em ampolas de vidro seladas sob vácuo e mantidas à 110°C por 20h. A separação do triptofano foi feita em coluna C₁₈ com detecção fluorimétrica. Os aminoácidos sulfurados e os resistentes à hidrólise ácida foram derivatizados com 6-aminoquinolil-succimidil-carbamato (AQC), separados em fase reversa e detectados por fluorescência. Com as três metodologias foi possível a separação e quantificação dos seguintes aminoácidos: hidroxiprolina, ácido aspártico, asparagina, serina, ácido glutâmico, glutamina, glicina, histidina, arginina, treonina, alanina, prolina, tirosina, valina, lisina, isoleucina, leucina, fenilalanina, triptofano, cisteína e metionina. Todos os aminoácidos foram detectados na faixa de 10⁻¹² mol (pmol). A soma dos teores dos aminoácidos quantificados se aproximou do teor de proteína obtido pelo método Kjeldahl para as amostras testadas.

Palavras- chave: Melamina, Colágeno, Nitrogênio total